

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий  
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Гладышев М. И.  
подпись, фамилия, инициалы  
« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

## Выпускная квалификационная работа

06.03.01 БИОЛОГИЯ  
Код и наименование специальности

Эффект комбинированного воздействия наноалмазов и метаболитов  
грибов рода Trichoderma на ростовые процессы  
растений Avena sativa L.  
Тема работы

Научный руководитель \_\_\_\_\_ профессор, д.б.н. Голованова Т.И.  
Подпись, дата \_\_\_\_\_ Должность, ученая степень Фамилия, инициалы

Студент \_\_\_\_\_ ББ17-33Б Шмелькова В.Ю.  
Подпись, дата \_\_\_\_\_ Номер группы Фамилия, инициалы

Красноярск, 2021

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Грибы рода <i>Trichoderma</i> .....	9
1.1.1 Общая характеристика рода <i>Trichoderma</i> .....	9
1.1.1.1 Морфологическое описание.....	9
1.1.1.2 Особенности микопаразитизма <i>Trichoderma</i> .....	10
1.1.2 Биологическая активность <i>Trichoderma</i> .....	12
1.1.2.1 Грибы рода <i>Trichoderma</i> как агенты биоконтроля фитопатогенных микроорганизмов.....	12
1.1.2.2 Взаимодействие с растениями.....	12
1.1.3 Практическая значимость.....	16
1.2 Детонационные наноалмазы взрывного синтеза .....	17
1.2.1 Общая характеристика детонационных наноалмазов.....	18
1.2.2 Промышленный синтез наноалмазов.....	19
1.2.3 Области применения.....	21
1.2.4 Биологическая активность наноалмазов.....	22
1.3 <i>Avena sativa L.</i> .....	23
1.3.1 Экологическое и морфологическое разнообразие <i>Avena L.</i> .....	24
1.3.2 Основные фазы развития зерновых.....	28
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	33
2.1 Объекты исследования.....	33
2.1.1 Овес <i>Avena sativa L.</i> .....	33
2.1.2 Грибы рода <i>Trichoderma</i> .....	34
2.1.2.1 <i>Trichoderma harzianum</i> .....	34
2.1.2.2 <i>Trichoderma asperellum</i> .....	35
2.1.3 Модифицированные наноалмазы .....	36
2.2 Методы исследования.....	37
2.2.1 Получение метаболитов.....	37

2.2.2 Подготовка опытных вариантов.....	38
2.2.3 Условия выращивания растений.....	39
2.2.4 Определение физиолого-морфологических параметров.....	39
2.2.5 Определение биохимических параметров.....	40
2.2.6 Определение фотосинтетической активности листьев .....	41
2.2.7 Статистическая обработка результатов.....	42
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ_ОБСУЖДЕНИЕ.....</b>	<b>43</b>
3.1 Влияние грибов рода <i>Trichoderma</i> и модифицированных наноалмазов на всхожесть семян <i>Avena sativa L.</i> .....	43
3.2 Влияние грибов рода <i>Trichoderma</i> и модифицированных наноалмазов на морфо-физиологические параметры <i>Avena sativa L.</i> .....	44
3.3 Влияние грибов рода <i>Trichoderma</i> и модифицированных наноалмазов на накопление биомассы растения <i>Avena sativa L.</i> .....	46
3.4 Влияние грибов рода <i>Trichoderma</i> и модифицированных наноалмазов на содержание пигментов в надземной части <i>Avena sativa L.</i> .....	48
3.5 Влияние грибов рода <i>Trichoderma</i> и модифицированных наноалмазов на биофизические параметры <i>Avena sativa L.</i> .....	50
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>55</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>56</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность.** В процессе онтогенеза растения подвергаются воздействию различных стрессовых факторов окружающей среды, к которым относятся свет, температура воздуха и почвы, вода в почве и атмосфере, движение воздуха, дымовые газы, засоление грунтовых вод, естественная и искусственная радиация. Наряду с факторами внешней среды, большое влияние на растительный организм оказывает микрофлора почвы. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что в природных условиях высшие растения всегда колонизированы микроорганизмами, которые имеют большое влияние на адаптацию растений.

Человек играет немаловажную роль в культивировании сельскохозяйственных растений, но, создавая необходимые условия для роста и развития растительных организмов, он не исключает возможного взаимодействия растений с патогенными микроорганизмами, которые могут подавлять или задерживать рост растений и даже приводить к их гибели. В связи с этим изучение взаимодействия микроорганизмов-антагонистов патогенов и растений в настоящее время представляет масштабный научный интерес и особенно актуально в связи с возможностью альтернативной замены пестицидов на вещества биологической природы. Стоит отметить, что большой урон сельскохозяйственным угодьям наносит именно неконтролируемое применение пестицидов, которые оказывают влияние на ростовые процессы растений, на их продуктивность и качество продукции. Поэтому, остро стоит вопрос разработки экологически безопасных агентов биоконтроля, представляющих огромный спектр как защитного воздействия на растительные организмы от фитопатогенных микроорганизмов и негативных абиотических факторов окружающей среды, так и воздействие, стимулирующее рост и развитие растительного организма.

Воздействие микроорганизмов оказывается как отрицательно, так и положительно на ростовые процессы и устойчивость растений. Положительное воздействие основано на антагонистических свойствах микроорганизмов. К

таким микроорганизмам относятся и грибы рода *Trichoderma*. Препараты на их основе безопасны для живых организмов и окружающей среды.

В последние годы непрерывно растет интерес к изучению возможностей применения частиц нано размеров. В практическом плане несомненный интерес могут представлять частицы наноалмаза (НА), получаемые при детонации сильных взрывчатых веществ. Популярность они начали набирать относительно недавно, но уже стали незаменимыми в тех сферах, где дело касается микро размеров, и в дальнейшем они, возможно, найдут более широкое применение не только в медицине, но и в других сферах деятельности человека. Из многочисленных новых ультрадисперсных материалов наноалмазы представляют собой один из самых сложных и интересных объектов: они нетоксичны, биосовместимы и способны преодолевать биологические барьеры, проникая в клетки. Большие возможности модификации поверхности и нано размеры позволяют рассматривать их как весьма привлекательные объекты для использования в процессе доставки лекарственных средств и различных препаратов в клетки организма. Используя модифицированные наноалмазы, мы имеем возможность управлять ходом реакции, можем использовать их как тест-системы.

**Научная новизна.** Разработан целый ряд микробных биопрепаратов для борьбы с многими фитопатогенами. Необходимость в разнообразии биопрепаратов возникает ввиду проявления резистентности у патогенных организмов к препаратам. Грибы рода *Trichoderma* достаточно быстро вытесняют из грунтов или субстратов патогенную микрофлору, за счет многочисленных факторов воздействия на патогены. На данный момент существует множество работ, основанных на их высокой антагонистической и гиперпаразитической активности, но механизм взаимодействия микроорганизмов-антагонистов изучен недостаточно полно, поэтому исследования взаимодействий грибов рода *Trichoderma* с растениями представляет научную новизну и требует дальнейших исследований.

**Практическое значение.** Результаты исследования могут быть использованы для разработки новых биопрепаратов на основе грибов рода *Trichoderma* и модифицированных наноалмазов. Так же помогут изучить более подробно действие наноалмазов внутри растительного организма.

**Цель:**

Определить совместное действие модифицированных наноалмазов и грибов рода *Trichoderma* на ростовые процессы растений *Avena sativa L.*

**Задачи исследования:**

Изучить влияние различных штаммов грибов рода *Trichoderma* и модифицированных наноалмазов на:

- физиолого-морфологические параметры *Avena sativa L.*;
- биохимические параметры: хлорофилл *a* и *b*, каротиноиды в листьях растений *Avena sativa L.*;
- скорость электронного потока и квантовый выход.

Работа выполнялась на кафедре водных и наземных экосистем в Институте фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского Федерального университета, под руководством доктора биологических наук Т.И. Головановой.

Автор благодарен доктору биологических наук В.С.Бондарю, заведующему лабораторией Нанобиотехнологии и Биолюминесценции ИБФ СО РАН, за предоставление препарата модифицированных наноалмазов и полезное обсуждение полученных результатов, доктору биологических наук, профессору Н. А. Гаевскому за обучение работы и рекомендации, сделанные в процессе измерения биофизических параметров растений, полученных на приборе «ПАМ-флуоримет».

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Грибы рода *Trichoderma*

Грибы рода *Trichoderma* принадлежат к отделу *Ascomycota*, классу *Sordariomycetes*, отряду *Hypocreales*, семейства *Hypocreaceae* [1]. К данному роду по разным оценкам относятся от 200 до 400 видов, некоторые из которых могут оказаться синонимами других видов или принадлежать другим родам. В 1821 году Элиас Фрай впервые описал их как *Sphaeria rufapers* [1,43].

Большинство же видов были определены в начале XXI века [42].

#### 1.1.1 Общая характеристика рода *Trichoderma*.

##### 1.1.1.1 Морфологическое описание

Род *Trichoderma* по своему составу и свойству довольно удивительный гриб. Являясь типичным представителем влажных тропических и субтропических лесов, также в аридных умеренных и северных зонах, его встречают даже в более экстремальных условиях – на крайнем севере и юге. Данный гриб можно обнаружить по массе конидий, окрашенных в зеленый цвет, реже в желтый и белые цвета, на древесине, на травяных субстратах (рис.1), на съедобных грибах. [1,32,40].



Рисунок 1. *Trichoderma viride* [1].

Основные признаки, характерные для *Trichoderma*:

- морщинистая, яркоокрашенная или неокрашенная плотная стромата или же палочковидная, овощной формы, диаметр которой более 5 мм;
- перитеции, окружены плотными строматами, состоящими из псевдопаренхимы или уплотненных гифов;
- образование 8-ми светло-зеленых аскоспор с перетяжкой и разной формы[1].

На рисунках 2.1 и 2.2 представлено морфологическое строение *Trichoderma* на примере *T. viride*.

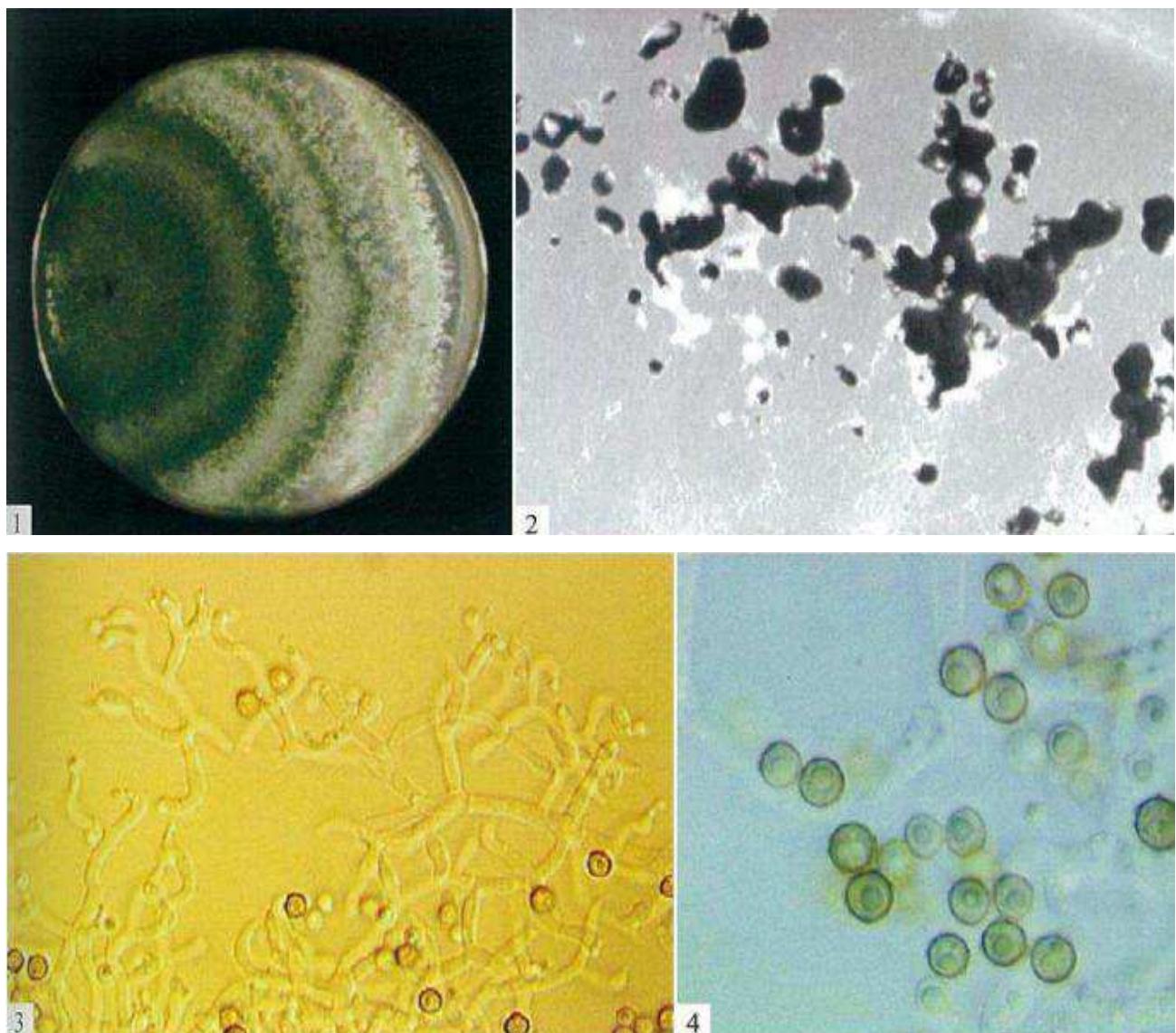


Рисунок 2.1 *Trichoderma Viride*. 1. Колония на PDA; 2. Пустулы; 3. Конидиофоры; 4. Конидии [1].

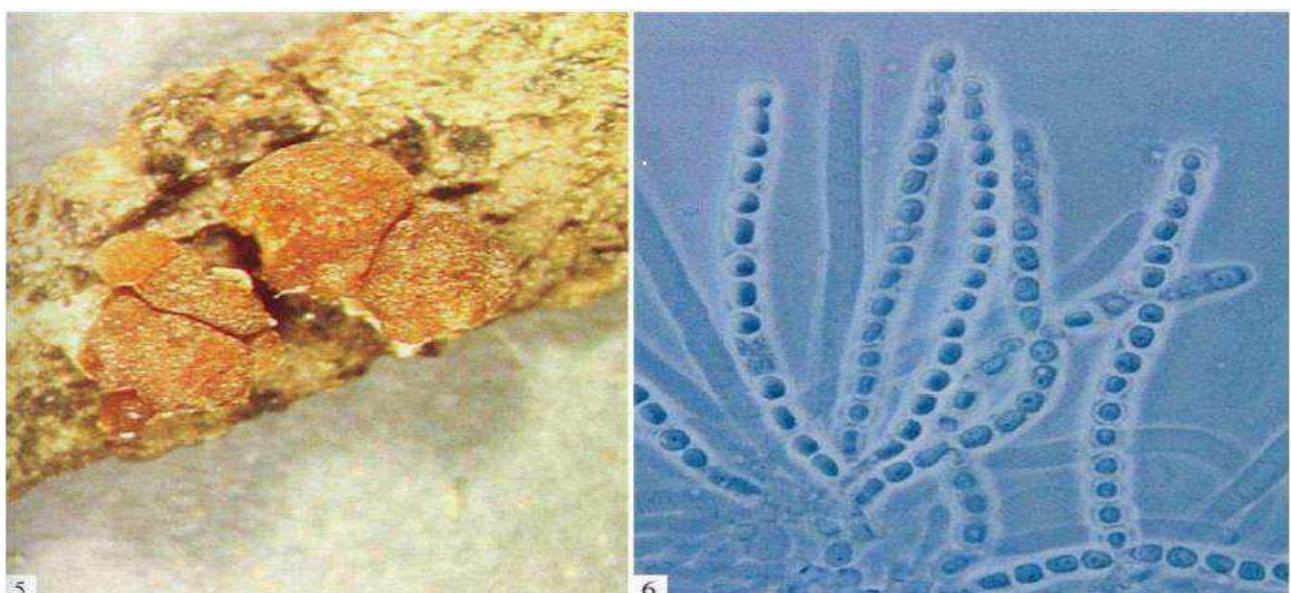


Рисунок 2.2. *Trichoderma Viride*. 5. Строматы; 6. Аски [1].

Дополнительные морфологические признаки рода:

- секция *Longibrachiatum*, отличается ярким зеленовато-желтым пигментом. Некоторые виды лучше опознаются через полное отсутствие пигмента, за исключением нескольких изолятов у которых можно заметить невыраженный красный пигмент;
- в среде у *T. aureoviride* образуются характерные кристаллы;
- штаммы *Trichoderma* имеют запах плесени, за исключением *T. viride* и *T. Atroviride*, чей запах напоминает кокос;
- индентификация штаммов по типу разветвления и объединения конидиофор в грозди и пустулы:
  - а) секция *Pachybasium* имеет скученные пустулы;
  - б) конидиофор по типу разветвления делится на правильно мутовчатое или более беспорядочное, узкое или изогнутое, широкое или прямое;
  - в) у некоторых видов группы *Pachybasium* верх конидиофор заканчивается стерильным отростком;
- признаки фиалид:
  - а) бывают сдвоенными, чередующимися или менее правильно расположеными;
  - б) форма: секция *Pachybasium* – типично короткие и округлые; секция *Longibrachiatum* – продолговатые, часто цилиндрической формы;
  - в) терминальные фиалиды почти всегда более продолговатые и более узкие;
    - форма конидий варьируется от сферической до эллиптической;
    - поверхность конидий у большинства видов гладкая, но есть варианты шероховатых и бородавчатых конидий в агрегатах *T. viride*, *T. saturnisporum* и *T. ghanense*;
    - пигментация конидий варьируется от бесцветной и до различных оттенков зеленого и коричневого [1].

### 1.1.1.2 Особенности микопаразитизма *Trichoderma*

Изучением *Trichoderma* начали заниматься после того, как была открыта его способность выступать в роли антагониста патогенов и продуцента веществ, необходимых для роста и развития растительного организма. Данные его свойства стали использоваться в сельском хозяйстве [31]. Самое широкое распространение, из множества препаративных форм, существующих на данный момент, получили твердая форма (споровая) и культуральная жидкость, в которой клетки триходермы находятся в виде мицелия. Твердые споровые формы вносят вручную под корневую систему растений или вместе с субстратом. Культуральные жидкости получаются при глубинном культивировании грибов и вносятся через систему капельного полива непосредственно перед высадкой рассады в грунт. Споровая форма препарата во многом определяется технологией получения спор. Культивирование грибов на различных носителях (зерно, гидролизованные опилки и т.д.), позволяет получить препарат, большую часть которого составляет носитель. Чистые споры грибов получают при использовании специальных систем, где, при поверхностном культивировании, споры отделяются от носителя. Стоит отметить, что данный способ является достаточно трудоемким. Недавно разработана еще одна форма препарата – на основе клеток грибов рода *Trichoderma* иммобилизованных в микрогранулах. Особенность данного препарата состоит в том, что мицелий гриба помещают в микрогранулы полисахаридной природы и одновременно с клетками в гранулах находятся компоненты питания, обеспечивающие рост клеток гриба [6].

Микопаразитизм – это прямая атака одного гриба другим, включает данные этапы: 1. Хемотропизм; 2. Распознавание; 3. Атака; 4. Проникновение в клетку хозяина и его подавление.

Этапы микопаразитизма.

Хемотропизм (положительный) – рост по направлению к химическому стимулу. Пример представлен на рисунке 3 [1].

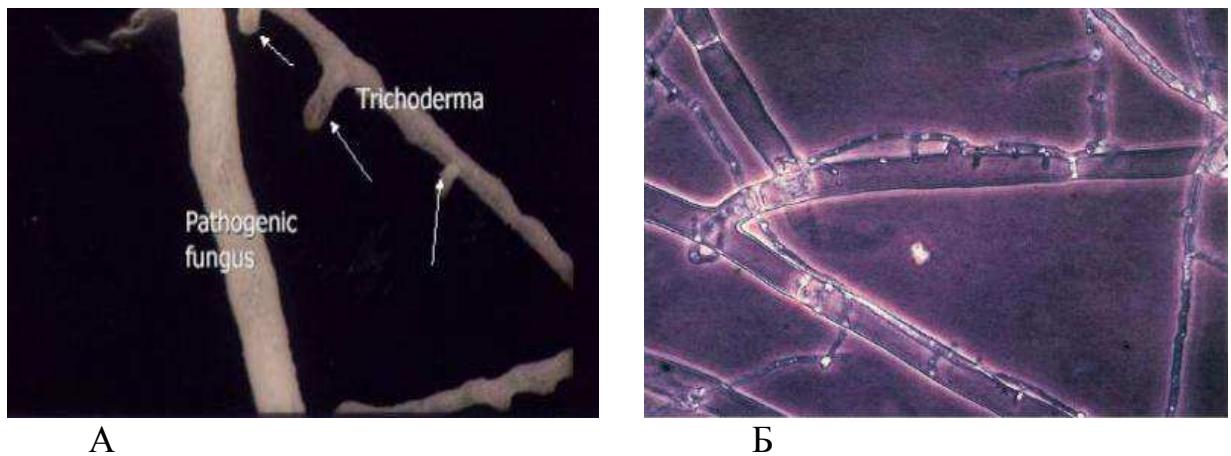


Рисунок 3. Микопаразитическое взаимодействие. Сканирующая электронная микрофотография гиф *Trichoderma*, окружающих гифы *Rhizoctonia solani*. А. Хемотропизм; Б. Опознавание и обвивание [1].

Опознавание и атака. Штаммы *Trichoderma* осуществляют прямой биоконтроль, распознавая и паразитируя на колониях грибов. Ключевую роль в этом процессе играют литические ферменты, в особенности хитиназы, представленные  $\beta$ -N-ацетилглюкозамидазой, эндохитиназой и хитобиозидазой, а также глюканазы, представленные эндо- $\beta$ -1,3-глюканазой и эндо- $\beta$ -1,6-глюканазой, которые осуществляют гидролитическую деградацию клеточных стенок грибов, состоящих в основном из хитина и глюкановых полисахаридов [1,35].

Не менее важную роль играют целлюлазы, представленные целлобиогидролазами, эндо- $\beta$ -1,4-глюканазами и глюкозидазами; ксиланазы, представленные эндо- $\beta$ -1,4-ксиланазами,  $\beta$ -ксилозидазами,  $\beta$ -манназами; пектиназы, арабиназы и протеазы. Гифы *Trichoderma spp.* опутывают гифы другого гриба, связываясь углеводными остатками своей клеточной стенки с лектинаами клеточной стенки гриба и образуют аппресории – утолщения мицелия, с высокой концентрацией осмотических растворов, которые служат для проникновения в клетку хозяина (рис.4) [1].

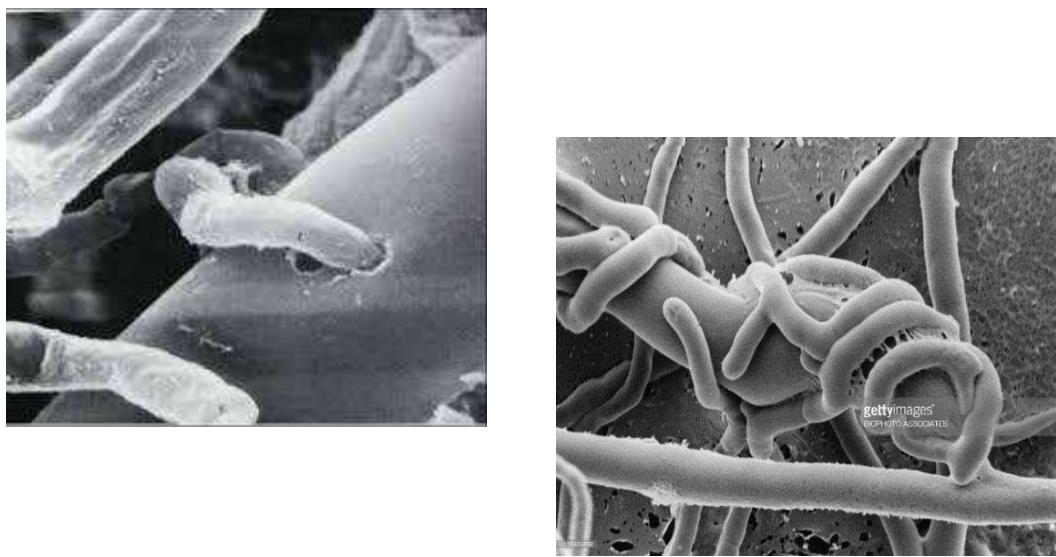


Рисунок 4. Проникновение грибом *Trichoderma* в патогенный гриб: А. Прикрепление через крючочки; Б. Опутывание патогенного гриба.

Далее происходит синтез ферментов и антибиотиков, которые вызывают деградацию клеточных стенок патогена и позволяют гаусториям проникнуть в клетку патогенного микроорганизма и начать ассимиляцию ее содержимого. *Trichoderma spp.* прикрепляются к корню растения посредством гидрофобинов – малых гидрофобных белков, находящихся на внешнем слое клеточной стенки. После закрепления на корне виды грибов рода *Trichoderma* производят целлюлазы, что позволяет проникнуть гифам гриба внутрь [1].

### 1.1.2 Биологическая активность *Trichoderma*

#### 1.1.2.1 Грибы рода *Trichoderma* как агенты биоконтроля фитопатогенных микроорганизмов

Виды *Trichoderma* в процессе жизнедеятельности выделяют токсические вещества, обладающие антибиотическими свойствами, в основе действия которых лежит механизм вмешательства в процессы биосинтеза белка или хитина в клетках фитопатогенов. [7]. Во многих статьях акцентируют внимание на ингибирующей активности микромицета в отношении фитопатогенных грибов, таких, как *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora parasitica* и др. Грибы рода *Trichoderma* проявляют гиперпаразитизм – выделяют ферменты разрушающие клеточную стенку грибов и, проникая своими гифами внутрь фитопатогенов, подавляют их. Для доказательства данного механизма проведены детальные исследования antagonизма грибов *Trichoderma* и грибов\_фитопатогенов для нескольких видов: *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. virens*, *T. asperellum*, *T. Asperelloides* [5,28].

#### 1.1.2.2 Взаимодействие с растениями

Результатом сложного сочетания структурных характеристик и индуцированных биохимических реакций растений является их устойчивость к патогенам. Функцию барьера для предотвращения проникновения патогенов выполняют кутикула и клеточная стенка, индуцируемые защитные реакции растения, включающие продукцию сигнальных молекул (салациловая кислота, этилен, жасмоновая кислота), регулирующих экспрессию генов, синтез активных форм кислорода, фосфорилирование и дефосфорилирование специфических белков, синтез фенилпропаноидов, фитоалексинов и патогенсвязанных белков[4,28].

Патогены используют различные стратегии для преодоления защитного барьера и проникновения в ткани растения. Некоторые патогены являются специфическими для одного вида растения, другие же поражают широкий круг растений, но независимо от типа патогена растения могут воспринимать его

присутствие и инициировать защитную реакцию. Сначала растения распознают элиситоры (вещества, индуцирующие экспрессию защитных генов в растениях) и «молекулярный образ» патогена (ферменты, белки, продукты распада полисахаридов клеточных стенок растения). В некоторых случаях узнавание патогена видоспецифично, при неспецифичном узнавании наличие возбудителя обнаруживается с помощью элиситора [4]. Результатом взаимодействия хозяина и патогена является либо восприимчивость, либо устойчивость растения, что определяется сочетанием генотипов и физиологического состояния растения и самого патогена, а также условиями окружающей среды [4,28]. Грибы рода *Trichoderma* колонизируют корневую систему растений, вступая в авирулентный симбиоз с растениями, и вызывают устойчивость у последних к грибковым инфекциям. При этом, на поверхности корней растений и внутри эпидермиса наблюдается образование жизнестойких и долгоживущих колоний. На рисунке 5 показано взаимодействие *Tasperellum T-203* с корневой системой огурца [1].

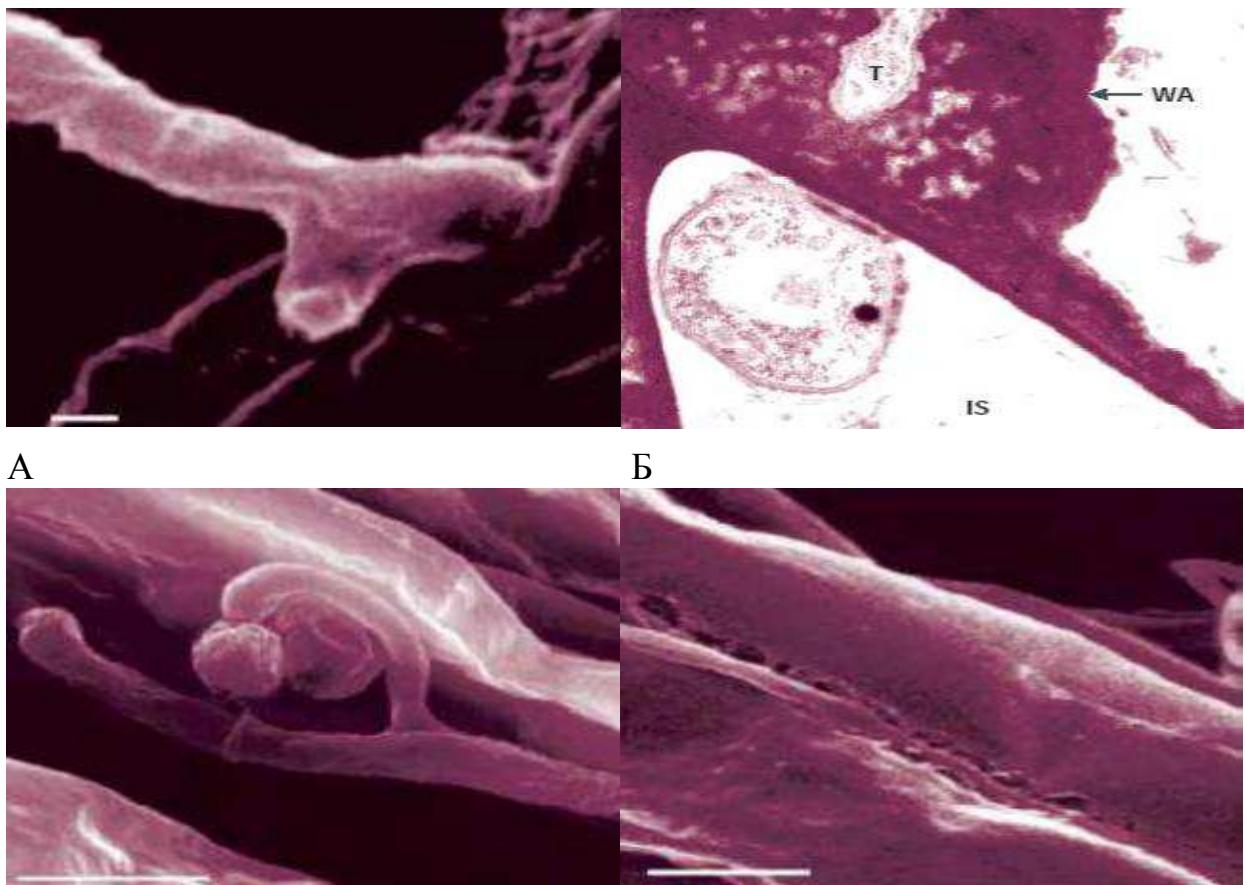


Рисунок 5. Взаимодействие *Trichoderma asperellum* T-203 с корнями огурца:

- А. Аппресория-подобная структура;
- Б. Обвивание корневого волоска (при взаимодействии с другими грибами);
- В. Проникновение в кортикальные клетки корня;
- Г. Корни огурца начинают реагировать на грибы-антагонисты утолщением клеточной стенки (W), которую гифы грибов (T), находящиеся в интрацеллюлярном пространстве (IS), пытаются безуспешно преодолеть. Повышенная электронная плотность и осмофильная природа стенки клетки-хозяина указывает на продукцию фенольных компонентов в ответ на *Trichoderma asperellum*, которые хорошо окрашиваются в реакции с гидроксигруппами [1].

Отсутствие патогенности грибов рода *Trichoderma* по отношению к растительным организмам объясняется тем, что данный гриб вырабатывает ряд

метаболитов, повышающих резистентность растений к множествам грибковых инфекций. Фитогормоны гриба – цитокинины, которые, поступая в растительный организм, стимулируют его физиологические процессы, приводя к более активному развитию. *Trichoderma* так же выделяет факторы роста (цитокинины, ауксины, этилен), витамины, органические кислоты, внутриклеточные аминокислоты и больше сотни антибиотиков. Например, из данного гриба выделяют антибиотик трихотецин и триходермин, который используют как средство защиты растений от грибковых болезней [5,28].

### 1.1.3 Практическая и экологическая значимость

Триходерма продуцирует ферменты (целлюлазы, хитиназы, пектиназы, ксиланазы, серинзависимые протеиназы и др.), которые используются в целлюлозно-бумажной, пищевой, текстильной промышленностях, при получении спирта, в производстве очищающих средств, переработке отходов с целлюлозой, в производстве кормовых добавок. Грибы *Trichoderma* используется для компостирования отходов и для биологической очистки почвы [1,21].

Антагонистические данного гриба используются в разработке методов защиты растений от грибных возбудителей болезней (включая корневые и прикорневые гнили). Показано, что использование биопрепараторов на основе триходермы оказалось более эффективным по сравнению с применяемыми фунгицидами при обработке ряда сельскохозяйственных культур [21,6,29,8]. Антагонист и другие полезные почвенные микроорганизмы повышают рост растений и урожайность, но долговременное улучшение вызывают исключительно ризосферокомпетентные штаммы. В масштабном растениеводстве *T. harzianum* широко используется для биологической защиты вместо химических фунгицидов, поскольку он не только проявляет высокую эффективность, но и безопасен для человека. По сравнению с действием пестицидов эффект от данного биоконтрольного агента сохраняется надолго, он

ниже по стоимости значительно улучшает состояние корневой системы растений [1].

В России созданы биопрепараты на основе грибов *Trichoderma*. Например, для борьбы с возбудителями вертициллезного увядания хлопчатника – *Verticillium dahliae*, склеротиниоза огурца – *Sclerotinia sclerotiorum*, ризоктиниоза картофеля – *Rhizoctonia solani* применяют биопрепарат триходермин. В США создан биопрепарат в гранулах на основе *T. harzianum*. В Швеции запатентован биопрепарат, на основе биомассы *T. viride*. В Англии существует микроfungицидный продукт, который содержит споры и мицелий *Trichoderma viride* [23]. На травоядных вредителей данный антагонист не влияет. Показано, что личинки, обработанные биопрепаратами на основе грибов *Trichoderma*, и достигшие стадии куколки, ни по каким параметрам не отличаются от стадии контроля [38].

## 1.2 Детонационные наноалмазы взрывного синтеза

Детонационные алмазы – кристаллическая компонента, получаемая взрывным путем из углеродсодержащих взрывчатых веществ при отрицательном кислородном балансе. Относится к наноматериалам, изучение и применение которого привлекает широкий круг исследователей. Данные алмазы характеризуются наноразмерностью, активностью периферической оболочки и химической стабильностью алмазного ядра [9,20,30].

Синтез алмаза с использованием взрывчатых веществ, проводится с 1961 г. Наноалмазы были впервые синтезированы в 1963 г. Российскими учеными путем взрывного разложения мощных составов взрывчатых веществ с отрицательным кислородным балансом в неокисленной среде. Впоследствии велись масштабные разработки и исследования различных способов динамического воздействия на чистый углерод и углеродсодержащие смеси [9,17].

### 1.2.1 Общая характеристика детонационных наноалмазов

Наноалмаз (НА) – ультрадисперсный алмаз, который представляет собой углеродную наноструктуру, имеющую кристаллическое строение типичное для алмаза. Характерный размер одного нанокристалла равен 1÷10 нанометров (10-100 ангстрем).

НА представляют собой объекты с 3-х слойной структурой:

1. Алмазное ядро – размер 3-6 нм, содержит до 70-90% атомов углерода;
  2. Переходная углеродная оболочка вокруг ядра из рентгеноаморфных структур углерода – размер 0,4-1,0 нм, вмещает до 10-30% атомов углерода;
  3. Поверхностный слой, в котором кроме углерода находятся и другие гетероатомы (O, H), образующие ряд функциональных групп; атомы азота равномерно распределены по всем слоям наноалмаза.
- Схематическая модель поверхности наноалмаза представлена на рисунке 6 [9,3,4].

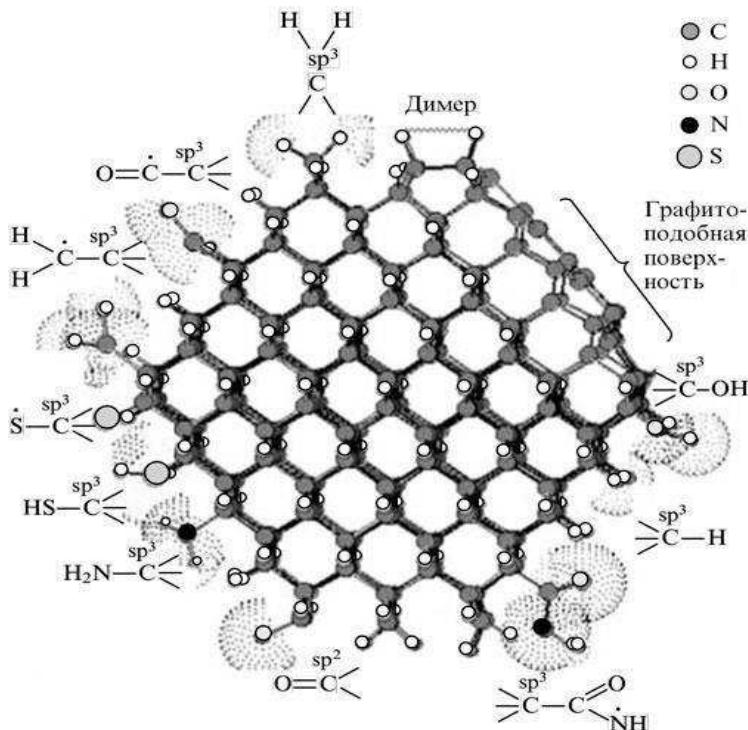


Рисунок 6. Схематическое изображение поверхности наноалмаза с различными функциональными группами (по О. Шендеровой) [4].

У ДНК весьма небольшой диапазон размеров кристаллических частиц, равный 3-6 нм, данные подтверждены различными методами исследований, один из которых — высокоразрешающая просвечивающая электронная микроскопия (рис. 7) [19].

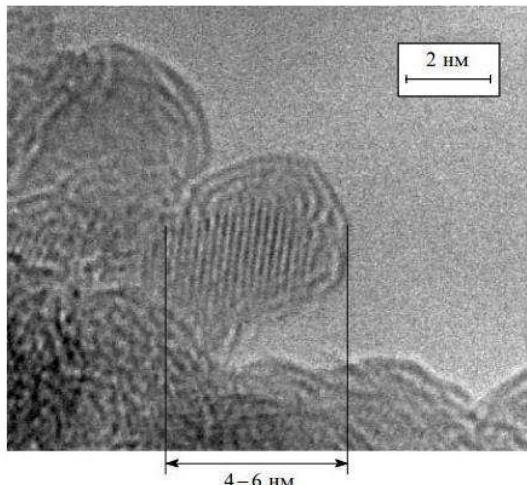


Рисунок 7. Микрофотография индивидуальной частицы ДНК [4].

Порошок ДНК, по типу организации частиц, является представителем наноструктурированных веществ. Выделение наноалмазов из аморфных продуктов подрыва предусматривает обработку их поверхности сильными окислителями, следствием чего является наличие на поверхности функциональных групп с лабильным протоном и, соответственно, проявляется гидрофильность. Повышенная дисперсность и наличие функциональных групп – параметры, на которых базируются практически все попытки внедрения частиц ДНК в практику [30].

### 1.2.2 Промышленный синтез наноалмазов

Наиболее распространены следующие промышленные технологии получения алмазных наночастиц:

1. Выделение из природных алмазов;
2. Синтез при сверхвысоких температурах и давлениях;
3. Детонационный синтез;

4. Электронно- и ионно-лучевые методы (основаны на облучении пучками электронов и ионами аргона);
5. Осаждение углеродосодержащего пара химическим методом;
6. Электрохимическое осаждение на аноде [4].

Промышленное производство НА включает: детонационный синтез, химическую очистку НА от кислоты, кондиционирование, улавливание и последующая утилизация кислых паров и газов, подготовку и рециклизацию азотной кислоты, водоподготовку [9].

Очистка НА термоокислительным методом с использованием жидкофазного высокотемпературного окисления азотной кислотой под высоким давлением, обеспечивает высокие и стабильные показатели очистки, является наиболее отработанной и легко поддается масштабированию, что позволяет организовать высокопроизводительный процесс с низким уровнем экологически опасных отходов. Предприятия используют метод очистки НА, состоящий из двух стадий: 1. Обработка шихты 50-99%-ной азотной кислотой при 80-180°C; 2. Обработка шихты 10-40%-ной азотной кислотой при 220-280°C. Так же есть более новый способ химической очистки НА, суть которого состоит в совместной обработке алмазных шихт 40%-ной азотной кислотой и кислородом воздуха при 200-280°C и давлении 5-15 Мпа. В ходе данной обработки не затрагивается структура алмазного ядра, но заново формируется внешний слой частиц НА. Именно поэтому очистка является определяющей стадией в формировании потребительских свойств НА, ведь на этой стадии определяется возможность получения разнообразных модификаций продукта. Общепризнанными считаются работы по синтезу алмаза при детонации взрывчатых веществ с отрицательным кислородным балансом, выполненные в Челябинске в 60-х годах Волковым К.В., Елиным В.И., Даниленко В.В. [9, 17].

В ходе образования наноалмазов в детонационной волне протекают следующие процессы:

1. Конденсация углерода в зоне реакции с образованием первичных кластеров ( $d < 1$  нм);

2. Взаимодействие кластеров (жидко-капельная коалесценция), с образованием нанокапель:
3. Кристаллизация нанокапель с образованиемnanoалмазов (при условии достаточного времени их охлаждения турбулентными потоками продуктов детонации) или аморфизация нанокапель и кластеров, с образованием свободной и связанной сажи [9].

#### 4. 1.2.3 Области применения

В настоящее время область применения НА в разнообразных областях современной техники довольно обширна – от рентгеновской оптики и информационных систем и до машиностроения. Они отличаются уникальным сочетанием свойств, присущих как алмазу, так и характерных для наноструктур [41]. Детонационные nanoалмазы так же широко применяют для создания алмазных покрытий, абразивных и смазочных материалов [3]. В настоящее время лидируют три направления применения НА: финишное полирование, гальваника, масляные композиции. НА служат в роли мощного структурообразователя, обеспечивая дисперсионное упрочнение материалов. При использовании НА в электрохимических покрытиях повышаются микротвердость, износстойкость, антикоррозионная стойкость, улучшается внешний вид, значительно снижается пористость. При небольшом содержании частиц НА достигается равномерное распределение по покрытию. Введение алмазных частиц в полировальные композиции, приводит к улучшению параметров процесса химико-механического полирования, заметно повышается эффективность обработки поверхности в целом.

Преимущества НА как модификаторов поверхностей трения перед другими типами подобных веществ:

1. Эффективность при низких концентрациях в базовом масле;
2. Совместимость с различными минеральными и синтетическими маслами;
3. Безопасность углеродной добавки в масла по сравнению с металлическими частицами или фторуглеродными веществами.

Примером для вышеперечисленного служит защита памятников архитектуры из мрамора. Для этого применяют силикатно-органические покрытия, включающие НА. Заключено, что в присутствии НА по всей площади обработки, подавляется рост грибков и бактерий, разрушающих структуру камня [18].

Применение частиц нано размеров открывает большие возможности в биологии и медицине. Например, у наночастиц золота есть способность проникать в клетку и стимулировать “прививку” различных биологических макромолекул (протеины и аминокислоты), с целью обеспечения доставки лекарств непосредственно к пораженным участкам. [3,11]. При химиотерапии больных очень высоко применение токсичных антиоксидантных препаратов, в следствии чего актуален поиск малотоксичных препаратов аналогичного действия. Чем и отличаются НА, являясь полностью биосовместимыми, преодолевая биологические барьеры, не являются токсичными и канцерогенными веществами, не вызывая геномные мутации [9]. К примеру, при изучении моделей рака печени и молочной железы *in vivo* у лабораторных мышей, многопрофильная группа ученых, инженеров и клиницистов установила, что летальная доза химиотерапевтического препарата, связанная с НА, значительно уменьшает размер опухоли у животных. При этом уровень выживаемости повысился, а побочных токсических эффектов на ткани и органы не наблюдалось. Во всех испытаниях НА проявляют заметное положительное действие, основа результата которого – увеличение продолжительности жизни больных [3,9,11].

#### 1.2.4 Биологическая активность наноалмазов

У НА химически пассивное ядро классического алмаза, округлой формы и химически активный поверхностный слой функциональных групп из не опасных для живого организма [9]. Большие возможности модификации поверхности и нано размеры позволяют рассматривать их как весьма привлекательные объекты для использования в процессе доставки

лекарственных средств. Большинство экспериментальных исследований приурочено к рассмотрению пути повышения эффективности лечения онкологических заболеваний за счёт применения препаратов в сочетании с наноалмазами. Алмазоподобные наночастицы используются в качестве средства, которое задерживает вещества в клетке на более длительный срок. Это свойство существенно снижает распространение токсичного препарата в организме и дает возможность уменьшить дозу использованного препарата [18].

### 1.3 *Avena sativa L.*

Отдел: *Angiosperms* (Цветковые растения, или Покрытосеменные);

Класс: *Liliopsida* (Однодольные);

Отряд/Порядок: *Poales* (Злакоцветные);

Семейство: *Poaceae* (Злаки, или мятликовые);

Подсемейство: *Pooideae* (Мятликовые);

Род: *Avena* (Овёс);

Вид: *Avena sativa* (Овёс посевной).

Одним из наиболее культивируемых видов на сегодняшний день является овес посевной – *Avena sativa L.* Постоянное потребление зерновых продуктов связано с подтвержденной временем эффективностью для здоровья, что непосредственно связано с их составом. Овес представлен значительным количеством ценных питательных веществ: белки, крахмал, ненасыщенные жирные кислоты, пищевые волокна в виде растворимых и нерастворимых фракций. Так же в состав овса входят различные микроэлементы – витамин Е, Zn, Fe, Se, Cu, Mn, каротиноиды, бетаин, холин, лигнины, серосодержащие аминокислоты, фитиновую кислоту и др. [12,33,39].

#### 1.3.1 Экологическое и морфологическое разнообразие *Avena L.*

Виды рода *Avena L.* отличаются большим морфологическим и экологогеографическим разнообразием. Наиболее распространены овес

посевной (*Avena sativa* L.) и овес византийский (*Avena byzantina* C. Koch.). В России произрастает овес песчаный (*Avena strigoza* Schreb.), из диких видов — овсюг обыкновенный (*Avena fatua* L.) и овсюг южный (*Avena Ludoviciana* Dur.) [47].

Структура рода *Avena* L., до сих пор вызывает споры среди исследователей. История систематического определения овса насчитывает около трех столетий. Самое первое и подробное описание рода *Avena* дал Карл Линней [15].

Основные признаки для классификации видов *Avena* L.:

- характер верхушки нижней цветковой чешуи (две тонкие ости; укороченные заострения; два настоящих зубчика);
- место прикрепления ости к цветковой чешуе: на уровне  $\frac{1}{4}$  или  $\frac{1}{3}$  части от верхушки цветковой чешуи; по середине;
- соотношение длин чешуй (неравные; почти равные);
- число жилок на колосковой чешуе (меньшее – до 7; большее – 10);
- длина колосковых чешуй;
- число цветков в колоске (меньшее – 2; большее - 5);
- сочленения зерновок в колоске (осыпание колосками; осыпание отдельными зерновками);
- форма и размер каллуса (примитивная – линейно-удлиненная форма; продвинутая – укороченная овально-эллиптическая форма) [15].

Признак служащий основой для классификации всего рода *Avena* является характер верхушки нижней цветковой чешуи. Наличие на верхушке цветковой чешуи двух тонких оствей является отличием диплоидных и тетраплоидных видов, характерных для: *A. clauda*, *A. pilosa*, *A. damascena*, *A. prostrata*, *A. longiglumis*, *A. atlantica*, *A. wiestii*, *A. hirtula*, *A. strigose*; *A. barbata*, *A. vaviloviana*, *A. abyssinica*. Другой признак – прикрепление ости к цветковой чешуе – зависит от вида *Avena*. Для тетраплоидного вида *A. murphyi* характерно прикрепление ости в  $\frac{1}{4}$  части от верхушки цветковой чешуи, прикрепление на уровне  $\frac{1}{3}$  части – для диплоидных *A. clauda*, *A. damascena*, *A. prostrata*, *A.*

*atlantica*, *A. hirtula*, тетраплоидных *A. insularis* *A. agadiriana*, и гексаплоидных видов *A. Sterilis*, *A. ludoviciana*, по середине – для диплоидных *A. pilosa*, *A. longiglumis*, *A. ventricosa*, *A. canariensis*, *A. wiestii*, для гексаплоидных видов *A. occidentalis*, *A. fatua* и тетраплоидных *A. barbata*, *A. vaviloviana*, *A. magna*. Отношение длины верхней к нижней колосковой чешуе говорит об эволюционном положении видов: неравное соотношение длин характерно для наиболее примитивных видов, равное – для видов, более продвинутых в эволюционном плане. Очень неравные чешуи (верхняя чешуя в 2 раза превышает нижнюю) имеют только диплоидные *A. clauda*, *A. pilosa* и тетраплоидный вид *A. Macrostachya*. Диплоидные *A. ventricosa*, *A. bruhnsiana*, *A. longiglumis*, *A. hirtula*, *A. wiestii*, *A. atlantica*, *A. strigosa*, тетраплоидные *A. barbata*, *A. vaviloviana*, *A. abyssinica*, *A. agadiriana*, *A. magna* и гексаплоидный вид *A. occidentalis* имеют неравные колосковые чешуи. Однаковые колосковые чешуи имеют *A. prostrata*, *A. damascena*, *A. canariensis*, *A. murphyi*, *A. insularis*, *A. fatua*, *A. sterilis* и *A. Ludoviciana*. При определении отдельных близкородственных видов важным признаком является число жилок на колосковой чешуе. Наименьшее – до 7 включительно, что характерно для самого примитивного тетраплоидного вида *A. macrostachya*, а наибольшее их число – для видов, более продвинутых в эволюционном плане.

Самая короткая колосковая чешуя отмечена у вида *A. prostrata* – 14,5 мм, крупную чешую имели *A. longiglumis*, *A. ventricosa* – 28,5-32,0 мм, *A. magna*, *A. murphyi* и *A. insularis* – 35,0-42,5 мм. Количество цветков в колоске бывает определяющим при рассмотрении близкородственных видов; наименьшее число цветков в колоске (2шт) характерно для *A. ventricosa*, *A. wiestii* и *A. agadiriana*, наибольшее (3-5шт) – для *A. clauda*, *A. murphyi*, *A. magna*, *A. insularis* и *A. sterilis*. По типам сочленения зерновок: осыпание колосками характерно для диплоидных *A. pilosa*, *A. ventricosa*, *A. bruhnsiana*, *A. canariensis*, *A. atlantica*, тетраплоидных *A. agadiriana*, *A. magna*, *A. murphyi*, *A. insularis* и гексаплоидных видов *A. sterilis* и *A. ludoviciana*; осыпание отдельными зерновками имеют диплоидные *A. clauda*, *A. prostrata*, *A. damascena*, *A.*

*longiglumis*, *A. wiestii*, *A. hirtula*, тетраплоидные *A. barbata*, *A. vaviloviana* и гексаплоидные виды *A. fatua* и *A. occidentalis*.

Установлено, что наиболее примитивные виды, отличаются линейно-удлиненной формой каллуса: *A. clauda*, *A. pilosa*, *A. ventricosa*, *A. Bruhnsiana*, *A. longiglumis*, *A. barbata*, *A. vaviloviana* и *A. macrostachya*; более продвинутые укороченным овально-эллиптическим каллусом: *A. damascena*, *A. prostrata*, *A. canariensis*, *A. wiestii*, *A. hirtula*, *A. atlantica*, *A. agadiriana*, *A. magna*, *A. murphyi*, *A. insularis* и все гексаплоидные виды [15].

Подробное морфологическое описание особенностей каждого из видов овса помогает определить точное систематическое положение каждого из них в сложной системе всего рода, помогает уточнить место в системе рода давно открытых и недавно описанных видов овса [16]. Значительное число видов рода *Avena L.* произрастает только в ненарушенных фитоценозах, то есть являются дикорастущими. В то же время каждый уровень имеет своего хорошо изученного культурного представителя [15,16].

Овес влаголюбив и теневынослив. Большую потребность во влаге растение испытывает примерно за 10-14 дней до выметывания. Овес можно возделывать на песчаных, суглинистых, глинистых почвах. Семена сеют на глубину 2-3 см из расчета 2-2,5 кг на 100 м. кв. Овсом можно засевать грядки и рано весной, до высадки рассады теплолюбивой культуры, и осенью, когда грядки освобождаются после уборки ранних культур. Измельчение и заделку зеленой массы в почву производят до выхода в трубку (до колошения). Корневая система овса уходит в почву до 120 см. Корни способны переводить соединения калия из недоступного для растений в легкодоступные формы [16].

К патогенным организмам данных растений относятся как некоторые почвенные бактерии принадлежащие родам *Erwina*, *Xanthomonas*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, так и фитопатогенные грибы:

*A spergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* [8]. Самым распространённым родом является *Fusarium*, характеризующая способностью паразитировать на органах и тканях растительных организмов. *Fusarium* способен снижать характеристики вхожести семян, интенсивность накопления биомассы и формирования ассимиляционного аппарата, также может изменять состав прикорневой микрофлоры растения [6].

Основными болезнями видов рода *Avena L.* являются:

- ржавчина, вызываемая грибами *Puccinia coronata Cda. f. sp. avenae Faser et Led.* – проявляется на листьях, стеблях и метелках в виде небольших пustул ржавой окраски;
- мучнистая роса, вызываемая грибами *Erysiphe graminis D. C. f. sp. avenae Em. March.* – напоминает серый, реже белый паутинистый налет на листьях, стеблях растения;
- гельминтоспориоз (вызывается возбудителем *Drechslera avenae (Eidam.) Ito et Kuribay.*) – проявляется в виде темно-серых или коричневых с красноватым ободком пятен на листьях, колосковых и цветочных чешуях;
- септориоз (вызывается грибами *Septoria avenae Frank.*) – проявляется в виде светлых резко ограниченных пятен на листьях и стеблях растения;
- некротическая пятнистость, возбудителями которой являются грибы *Myrothecium verrucaria Ditmar. ex Fr.* – проявляется в виде светло-зеленых, позднее желтеющих, пятен овальной формы на листьях растения;

- головневые заболевания, вызываемые грибами *Ustilago avenae* Jens. и *Ustilago kollerii* Wille. – заражаются в период появления метелки, где вместо соцветия образуется споровое ложе, а части соцветия разрушаются;
- бурый бактериоз (вызывается *Pseudomonas coronofaciens* Starr.) – проявляется в виде сначала желтых, затем красно-бурых пятен на листьях;
- вирус желтой карликовости ячменя (вызывается вирусом *Hordeum virus nanescens* Rademacher et Schwarz.) – проявляется в пожелтении и жесткости листьев растения;
- фузариоз (вызывается грибами из рода *Fusarium* spp.) – у овса инфекционный процесс обычно протекает бессимптомно.

Основными вредителями видов рода *Avena L.* являются:

- овсяная цистообразующая нематода – *Heterodera avenae* Woll. и стеблевая нематода – *Ditylenchus dispaci* Filip. – проявляется в виде поражения растения в различные фазы развития; выходя наружу, нематоды разрывают эпидермис корней, через пораженный участок в ткани растения проникают патогенные грибы и бактерии;
- шведская муха – *Oscinella frit L.* – повреждения приводят к гибели главного побега, к замедлению прохождения всех фаз развития нового побега;
- зерновой листовой жук – *Oulema melanopus L.* – повреждает листья растения;
- черемуховая тля (*Rhopalosiphum padi L.*) – является переносчиком вируса желтой карликовости ячменя [15].

У зараженных растений корни изменяют цвет, образуется гниль, заметно утончается прикорневая часть стебля по сравнению со здоровыми растениями.

При поражении семядолей, происходит

о б р а з о в а н и е    в д а в л е н н ы х    к р а с н о б у р ы х  
п я т е н ,                к о т о р ы е                п р и                п о в ы ш е н и и  
в л а ж н о с т и                о б р а з у ю т                б е л ы й                н а л ё т  
г р и б а .

З а ч а с т у ю                н е у с п е в а ю щ и е                в ы й т и                н а  
п о в е р х н о с т ь    в с х о д ы    п о г и б а ю т ,    е с л и    ж е  
о н и

в ы ж и в а ю т ,    т о    с и л ь н о    о т с т а ю т    в    р о с т е    и  
р а з в и т и и    и    п л о х о    з а к р е п л е н о    н а  
с у б с т р а т е .    В    з о н а х    п о в ы ш е н н о й  
в л а ж н о с т и    р и с к    р а з в и т и я    з а б о л е в а н и я  
у в е л и ч и в а е т с я [14].

### 1.3.2 Основные фазы развития зерновых

У зерновых культур принято выделять следующие фенологические фазы (рис.8):

1. Всходы;
2. Кущение;
3. Выход в трубку;
4. Стеблевание;
5. Колошениe (выметывание);
6. Цветение;
7. Созревание.



Рисунок 8. Фазы развития пшеницы – *Triticum* [46].

Прорастание семян – процесс, включающий несколько физиологобиохимических превращений при определенных условиях (достаточное количество влаги, определенная температура и воздух), заканчивается появлением первого зеленого листа.

Содержание воды для культур от их массы: овес – 60%, пшеница и рожь – 56%, ячмень – 48%, кукуруза – 44%, просо – 25%. Чем больше размер зерна, тем больше ему требуется времени для набухания. При помощи ферментов в набухшем зерне происходит гидролиз запасных питательных веществ эндосперма, при этом выделяются ферменты – цитаза и амилаза, которые расщепляют крахмал и гемицеллюлозу в более простые углеводы – декстрин, мальтоза. Инвертаза превращает тростниковый сахар в глюкозу и фруктозу, которые после распада используются на дыхание и рост клеток растения. Фермент протеаза преобразует белки в аминокислоты и аммиак, а липаза — жиры в жирные кислоты и глицерин.

При прорастании зерна происходит распад запасных питательных веществ и последующее образование новых соединений, из которых происходит формирование всех органов растения. Вначале начинается рост зародышевых корешков, затем стебелька, который покрыт специальным прозрачным чехликом (колеоптиле). Функция колеоптиле состоит в защите

стебелька и первого листочка, который при выходе на поверхность почвы разрывает чехлик. При появлении всходов у хлебных злаков бывает различная окраска: пшеница – зеленая, рожь – фиолетово-красная, ячмень – синевато-серая, хлеба II группы – светло-зеленая. Скорость появления всходов связана со многими факторами: особенности культуры, влажность, температура, состав и плотность почвы, глубина посева, энергия прорастания семян. Быстрому появлению всходов (4-6 дней) способствует теплая и влажная погода, а резкое похолодание замедляет этот процесс.

Кущение. Из подземных узлов стебля образуются придаточные корни, затем появляются боковые побеги, которые формируются из самого верхнего узла кущения на глубине 3 см от поверхности почвы. Первый подземный узел формируется на 7-й день после появления всходов у большинства хлебов I группы (ржань, пшеница и ячмень) или одновременно с ними — у хлебов II группы (сорго, рис, просо, кукуруза) и овса.

От степени развития узла кущения зависят формирование надземной массы и корневой системы, засухоустойчивость, зимостойкость и др. Частичное повреждение узла кущения приводит к задержке роста, отмирание – к полной гибели растения. Общая кустистость – количество побегов, приходящихся на одно растение. У озимых культур формируются 5-8 стеблей, у яровых — 2-3, но при благоприятных условиях их число может достигать до 10 и больше. Высокая урожайность (с учетом оптимальных почвенно-климатических условий) бывает, если общая кустистость составляет 5-8 побегов, в том числе продуктивная — 2-3. Энергия кущения и кустистость зависят от следующих факторов: водно-воздушный, тепловой, пищевой и световой режимы, вид и сорт растения, качество семян, срок посева, норма высева и др. У культур начало кущения происходит в разное время: хлеба I группы — при образовании 3-4 листьев, хлеба II группы — в фазе 5-8 листьев.

Выход в трубку. Во время кущения у зерновых начинает формироваться стебель и происходит удлинение междуузлий. Момент, когда внутри листового влагалища главного стебля на высоте около 5 см от почвы прощупывается

стеблевой узел, называется началом выхода в трубку. Присутствует такое явление, как удлинение листового влагалища, которое часто бывает осенью у переросших озимых культур и ошибочно считается фазой выхода в трубку. Вначале удлиняется нижнее междуузлие, затем второе, третье и следующие. Каждое новое междуузлие обгоняет в росте предыдущее. Такое формирование стебля принято называть вставочным или интеркалярным. Стебель у хлебов I группы — полый, у хлебов II группы заполнен сердцевиной.

Колошение. Колос (метелка) и колоски начинают закладываться еще в фазе кущения. Фаза колошения наступает, когда колос на 1/3 часть выходит из влагалища верхнего листа главного стебля. Дальнейшая дифференциация колоса (метелки) начинается при температуре +15°C. От выхода в трубку до выметывания зерновые культуры предъявляют повышенные требования к теплу, свету, влажности почвы, питательным веществам, так как в это время идет усиленный рост и формирование колоса.

Цветение — оплодотворение. У зерновых культур (кроме озимой ржи) цветение начинается вскоре после выметывания.

При неблагоприятных условиях (резкое повышение и понижение температуры, засуха, дожди и сильные ветры) цветение у ячменя происходит во влагалище листа, в то же время начинают раскрываться цветковые чешуи и появляются созревшие пыльники и рыльца. У ржи и пшеницы цветение начинается в средней части колоса, а у проса, сорго и овса этот процесс от верхних колосков постепенно переходит к основанию метелок. При этом происходит неполное опыление, что приводит к частичной озерненности колосьев, метелок и початков.

Созревание. После оплодотворения цветка начинается развитие завязи и формирование зерна. Ускорению созревания так же способствуют ранние сроки сева, повышенная густота стеблестоя, применение фосфорно-калийных удобрений. Для нормального созревания зерновых требуется определенная сумма активных температур. Высокая температура, почвенная засуха в период налива способствуют «запалу» зерна. Налив уменьшается, зерно формируется

щуплым и морщинистым, что приводит не только к снижению урожая, но и его качества. Дождливая и теплая погода способствует «стеканию» зерна, это происходит за счет гидролиза крахмала и выщелачивания водой растворенных веществ. Если в дождливую погоду уборка сильно затягивается, это приводит к прорастанию зерна в колосьях на корню. На севере Европейской части страны и в Сибири при дождливой и холодной погоде уборка проходит с большим запозданием, что приводит к повреждению зерна заморозками. Массовое распространение различных болезней и вредителей зерновых культур также способствует уменьшению и ухудшению качества урожая зерна.

Одной из основных причин полегания хлебов является недостаточная освещенность нижних междуузлий при быстром росте и развитии надземных органов. Это приводит к вытягиванию клеток, уменьшению толщины их стенок. Ослабленные междуузлия не выдерживают большой тяжести надземной части, в результате растения полегают. При раннем полегании еще может произойти выпрямление стебля за счет разрастания листовых узлов; при полегании после выколаивания никаких положительных изменений в посеве не произойдет. Для того чтобы не допустить полегания зерновых культур, агрономы применяют специальные препараты — ретарданты. Они хорошо растворяются в воде, быстро проникают в растения, что приводит к уменьшению и утолщению нижних междуузлий. При этом высота растений уменьшается на 20 см, что способствует повышению устойчивости зерновых к полеганию. Ретарданты повышают устойчивость растений к засухе, заболеваниям, в особенности к корневыми гнилям, за счет стимулирования роста корневой системы [27].

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## 2.1 Объекты исследования

В качестве объектов исследования использовали *Avena sativa L.*, *Trichoderma asperellum* штамм М99-9, штамм К6-15 и штамм МГ97, *Trichoderma harzianum* и наноалмазы детонационного синтеза.

### 2.1.1 Овес *Avena sativa L.*

Семейство злаки (*Poaceae*), к которому принадлежит овес посевной (*Avena sativa L.*) среди всех семейств цветковых растений занимает особое положение. Оно определяется не только высокой хозяйственной ценностью, но и той большой ролью, которую они играют в сложении естественных растительных сообществ.

Для проведения эксперимента были отобраны 500 шт. семян *Avena sativa L.* фирмы ООО ЛКФ «Семена для Сибири». Данный вид овса неприхотлив к почвам и климату. Прорастает при +2°C, хорошо переносит небольшие заморозки, поэтому культура популярна в северных областях, вегетационный период составляет 75-120 дней. При прорастании развиваются три зародышевых корешка. В первые дни главный стебель прибавляет 1-2мм/сутки, а корни развиваются стремительно. При образовании третьего-четвёртого листа начинается фаза кущения и образуются дополнительное корни и 3 производительных стебля, а на главном и боковых побегах закладываются зародышевые метёлки. Наиболее быстрый рост стебля и метёлки происходит после фазы выхода в трубку. Цветение продолжается от 6 до 10 дней и начинается от верхушки метёлки до основания и от концов ветвей первого порядка до главной оси метёлки. Созревание зерна продолжается около месяца.

### 2.1.2 Грибы рода *Trichoderma*

В сериях экспериментов использовали *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma asperellum* штамм К6-15, штамм М99-9 и штамм МГ97.

#### 2.1.2.1 *Trichoderma harzianum*

Колонии *Trichoderma harzianum* произрастают на стандартной среде Чапека, достигают края чашки Петри на 4-е сутки и составляют 7-9 см в диаметре (рис.9).

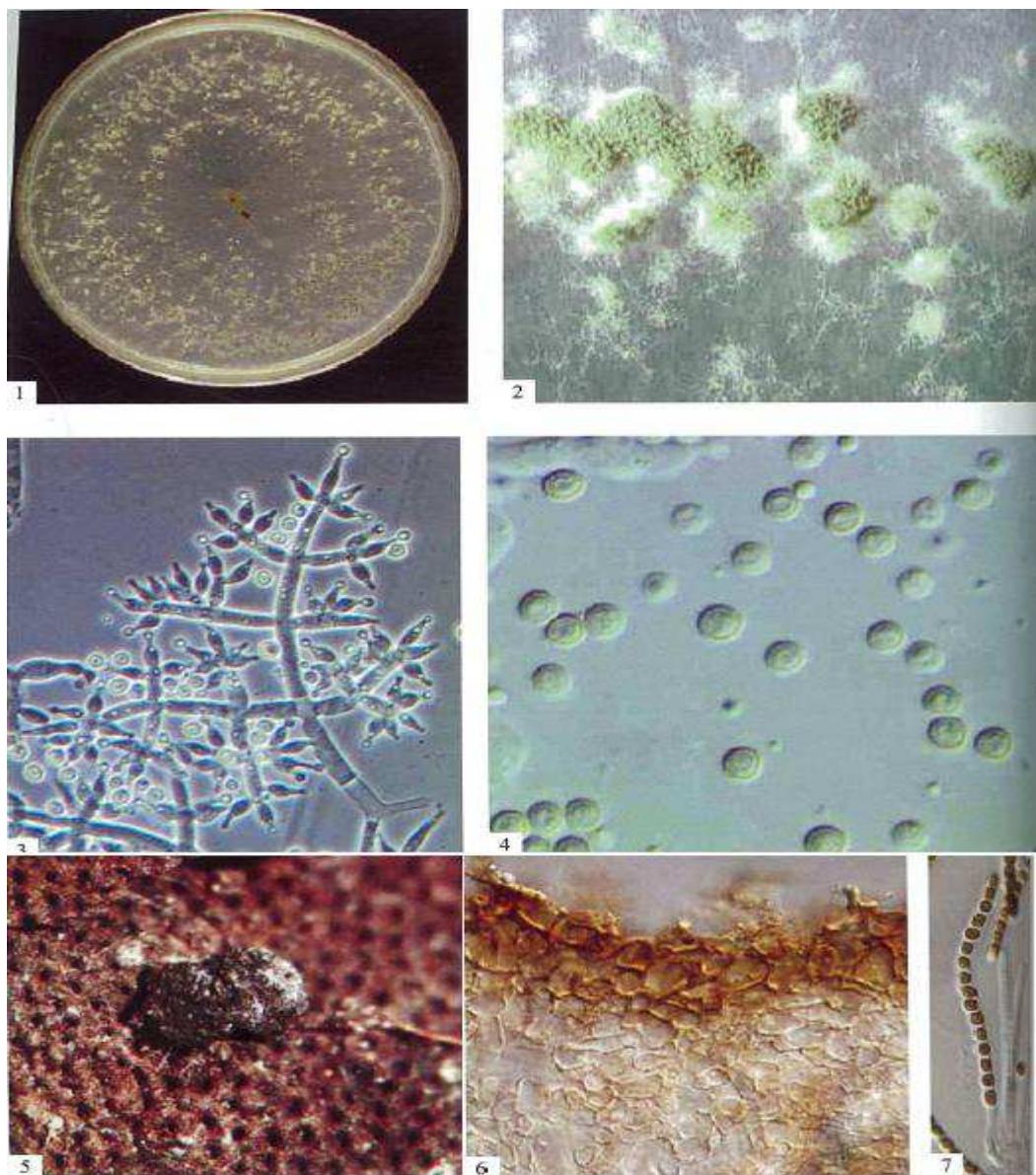


Рисунок 9. *Trichoderma harzianum*: 1. Колония на среде. 2. Пастулы 3. Конидиофоры. 4. Конидии. 5. Строматы. 6. Поверхность строматы. 7. Аски [2].

Запах слабый, землистый. Цвет непигментированный, желтоватый, бежевый. Конидиальное спороношение появляется на 4-6 день, обильное по всей колонии, отчего колония кажется зернистой. Цвет варьируется от жёлто-зелёного и тёмно-зелёного. Конидиеносцы в очертании пирамидальные, с супротивными веточками в узлах, с мутовками 2—5 фиалид. Фиалиды

фляговидные, 5—8,5 (16) × 3—4,5 мкм. Конидии бледно-зелёные, затем до тёмно-зелёных, почти шаровидные до яйцевидных, 2,5—4 × 2—3,5 мкм, гладкостенные. Хламидоспоры редки [2].

#### 2.1.2.2 *Trichoderma asperellum*

Колонии данных грибов произрастают на среде Чапека, при температуре 22 °C, достигают краев чашки Петри за 5 дней. Мицелий бесцветный, стелющийся, паутинистый. Спороношение начинается на 4-6 день роста. Цвет варьируется от серо-зеленого до темно-зеленого. Обратная сторона колонии имеет желтоватый оттенок. Пигмент в среду не выделяется и отсутствует экссудат. Запах слабый, пыльный. Гифы гладкие, не имеют оттенка, в диаметре около 2-4 мкм. Погруженный мицелий до 8 мкм шириной. Хламидоспоры обильные, терминальные или интеркалярные округлые, грушевидные, гладкостенные, светло-зеленые, 8-15 мкм в диаметре. Конидиеносцы древовидно разветвленные, фиалиды бутылевидные, конидии более округлые, бородавчатые. Вид отличается крупными округлыми конидиями. Ветвление конидиеносцев частое, через равные интервалы, веточки прямые и расположены по паре. Фиалиды расположены мутовками по 2-5, редко по одному. Конидии зеленые, собраны в слизистые головки, округлые или слегка вытянутые, крупные 4-6×3-5,5 мкм, бородавчатые. Основная среда обитания – почва, но встречаются и на плодовых телах грибов, есть только единственная зарегистрированная находка на древесине [1].

В работе использовали гриб *Trichoderma asperellum*: штамм К6-15, штамм МГ-97 и штамм M99-9 (рис.10).

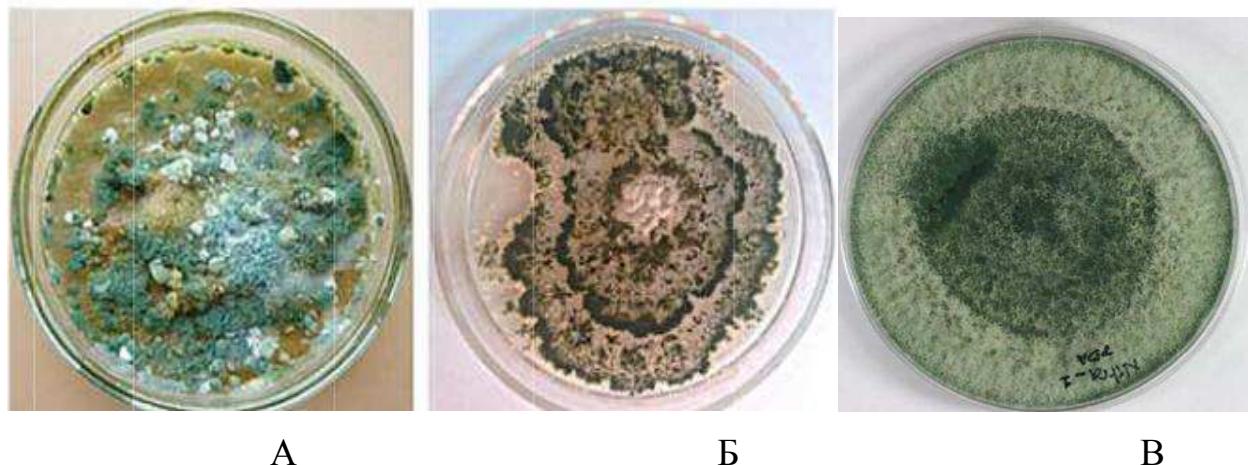


Рисунок 10. Морфология колоний штаммов грибов *T. asperellum* на агаризованной среде: А. Штамм M99-9; Б. Штамм K6-15, В. Штамм MG-97 [1].

*Trichoderma asperellum* штамм K6-15 изолирован в чистую культуру с поверхности ствола *Pinus sibirica* в 205 году на территории дендрария Института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН (г. Красноярск, Академгородок). Автор штамма – Литовка Ю.А.

Штамм MG-97 *T. asperellum* является известным штаммом. Получен Садыковой В.С. в результате селекционной работы по признакам продуктивности, фунгицидной и стимулирующей рост растений активности и способности к деструкции отходов деревообрабатывающей и гидролизной промышленности. Депонирован во Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов под номером F-765 [45]. Штамм предоставлен Прудниковой С.В.

*T. asperellum* штамм M99-9 выделен из почв Мининского лесного питомника (Емельяновский район, Красноярский край) в 1999 г.,

### 2.1.3 Модифицированные наноалмазы

Модифицированные наноалмазы (МНА) взрывного синтеза, имеют высокую коллоидную стабильность в дисперсионных средах (вода,

органические растворители, масла), применимы для медико-биологических исследований. НА получены из взрывных наноалмазов российского производства (ООО «Реал-Дзержинск») способом, разработанным ранее в ИБФ СО РАН. Фракцию МНА со средним размером кластеров наночастиц в гидрозоле  $d_{50} = 70.6$  нм выделяли из исходной суспензии МНА с помощью ее дифференциального центрифугирования (Avanti J-E, Beckman Coulter, США). Оценка распределения размеров кластеров МНА в гидрозоле проводилась с помощью Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Англия). Сухой порошок МНА получали высушиванием полученной фракции на роторном испарителе Rotavapor R-215 (Buchi, Швейцария). Гидрозоль МНА с концентрацией 3 масс.% получали добавлением деионизованной воды к навеске порошка наночастиц. Деионизованную воду получали с помощью Milli-Q system (Millipore, США).

## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1 Получение метаболитов

Метаболиты грибов рода *Trichoderma* получали методом глубинного культивирования на среде Чапека содержащей: сахарозу – 15 г,  $\text{NaNO}_3$  - 1.5 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,5 г,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,25 г,  $\text{KCl}$  - 0,25 г,  $\text{FeSO}_4$  - 0,035 г на 500мл дистилированной  $\text{H}_2\text{O}$ . В стерильных условиях в среду вносили споры гриба *Trichoderma* и ставили на горизонтальный шейкер (Wstrzasarka Uniwersalna THYS-2, Польша). Через неделю, для получения стерильных метаболитов, производили вакуумную фильтрацию на микробиологическом фильтре №8. Фильтры в два слоя помещали в воронку, фильтровали. Фильтрат хранили в холодильнике.

## 2.2.2 Подготовка опытных вариантов

Опытные варианты:

Trichoderma – растения, семена которых проращивали в растворе метаболитов *Trichoderma*;

MHA – растения, семена которых проращивали в гидрозоле MHA (концентрация наночастиц  $-2 \cdot 10^{-5}$  мг/мл);

Trichoderma+MHA – растения, семена проращивали в растворе, содержащем метаболиты микромицета и MHA.

В качестве контроля были растения, семена которых не были обработаны раствором метаболитов, MHA.

Объекты и материалы: семена *Avena Sativa L.* в количестве 500 шт., гидрозоль MHA с концентрацией 3 масс.%, метаболиты грибов рода *Trichoderma*, чашки Петри, фильтровальная бумага, пипетки на 1 мл, 5 мл, 10 мл, пробирки, бидистилированная вода. Все инструменты были обработаны в автоклаве.

Ход работы:

1. Фильтровальную бумагу помещали в чашки Петри и стерилизовали. Пробирки, пипетки так же предварительно подвергали стерилизации.
2. Готовили растворы, которые использовали для обработки семян *Avena sativa L.* (таб.1).

Таблица 1 – Состав растворов, используемых в опыте.

№	Вариант	Название	Состав растворов
1	Контроль	Контроль	Бидистилированная вода – 10 мл
2	Вариант 1	MHA	Бидистилированная вода 9 мл с гидрозоль MHA – 1 мл
3	Вариант 2	Метаболиты <i>Trichoderma asperellum</i> штамм K6-15	– 10мл
4	Вариант 3	Метаболиты <i>Trichoderma asperellum</i> штамм МГ-97	– 10мл
5	Вариант 4	Метаболиты <i>Trichoderma asperellum</i> штамм М99-9	– 10мл
6	Вариант 5	Метаболиты <i>Trichoderma harzianum</i>	– 9 мл, гидрозоль MHA – 1 мл

7	Вариант 6	Метаболиты <i>Trichoderma</i> + МНА	Метаболиты <i>Trichoderma asperellum</i> штамм K6-15 – 9 мл, гидрозоль МНА - 1 мл
8	Вариант 7	Метаболиты <i>Trichoderma</i> + МНА	Метаболиты <i>Trichoderma asperellum</i> штамм МГ-97 – 9 мл, гидрозоль МНА - 1 мл
9	Вариант 8	Метаболиты <i>Trichoderma</i> + МНА	Метаболиты <i>Trichoderma Asperellum</i> штамм М99-9 – 9 мл, гидрозоль МНА - 1 мл
10	Вариант 9	Метаболиты <i>Trichoderma</i> + МНА	Метаболиты <i>Trichoderma harzianum</i> – 9 мл, гидрозоль МНА - 1 мл

3. Семена *Avena Sativa L.* помещали в стерильные чашки Петри, куда вносили соответствующие растворы.
4. Для проращивания семян чашки Петри помещали в затененное место при комнатной температуре  $23\pm2^{\circ}\text{C}$  на 7 суток.

### 2.2.3 Условия выращивания растений

Пророщенные семена помещали на почвенный субстрат.

Состав субстрата: верховой и низовой торф, песок и доломитовая мука (рН 5.5-6.5; N – 30%; P – 30%; K – 40%).

Выращивание проводили при естественном освещении (облученность на уровне посевов – 300 мкмоль фотонов/ $\text{м}^2\text{с}$ ), относительной влажности –  $75\pm3\%$  и температуре –  $25\pm2^{\circ}\text{C}$ . Полив осуществляли отстоянной водопроводной водой, поддерживая относительную влажность почвы на уровне 60%.

### 2.2.4 Определение физиологического-морфологических параметров

Всходесть семян *Avena sativa L.* определяли на 7 сутки согласно ГОСТ 12038-84 [44].

Физиологические, биохимические и биофизические параметры растения для каждого из вариантов определяли в 5 повторностях на 14 и 21 сутки.

Длину надземной и корневой систем растения *Avena sativa L.* определяли с помощью линейки.

Сырую и сухую биомассу растений измеряли путем взвешивания на аналитических весах. Сухую биомассу определяли путем высушивания в сушильном шкафу при температуре 105 °C в течении суток.

### 2.2.5 Определение биохимических параметров

Содержание зеленых пигментов определяли спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинции. Для этого, навеску сырого растительного материала помещали в пробирку, заливали десятикратным количеством 96% этанола и ставили на водянную баню ( $t=65^{\circ}\text{C}$ ) на 30 минут. После бани, полученный раствор помещали в холодильник на ночь для полного извлечения пигментов.

Определение оптической плотности экстракта осуществляли на спектрофотометре (SPECOL-1300) (рис.11), при длинах волн (нм): 470, 649, 665, 720.



Рисунок 11. SPECOL-1300.

Концентрацию пигментов рассчитывали по формулам согласно Н. К. Lichtenthaler 1987 [36],

$$C_a = 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,7 \times (D_{649} - D_{720})$$

$$C_b = 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720})$$

$$C_{\text{кап}} = (1000 \times (D_{470} - D_{720}) - 2.13C_a - 97.64 \times C_b) / 209,$$

где:  $C_a$  – концентрация хлорофилла а (мкг/мл),  $C_b$  – концентрация хлорофилла b (мкг/мл),  $C_{\text{кап}}$  – концентрация желтых пигментов (мкг/мл),  $D$  – оптическая плотность раствора при заданной длине волны.

Оптическая плотность раствора при 720 нм выступала в качестве поправки для значений оптической плотности при 649 и 665 нм.

Содержание пигментов рассчитывали по формуле:

$$M = (C * V * P) / m,$$

где:  $C$  – концентрация пигментов (мкг/мл),  $V$  – объем раствора (мл);  $P$  – разведение;  $m$  – сырья биомасса растений (мг).

## 2.2.6 Определение фотосинтетической активности листьев

Чтобы определить механизм действия грибов рода *Trichoderma* и МНА на продуктивность растений, необходимо определить его влияние на первичные процессы фотосинтеза (ППФ). В основе метода лежит – снижение эффективности накопления света во время фотосинтеза, что приводит к увеличению интенсивности флуоресценции.

Об фотосинтетической активности листьев *Avena sativa L.* судили по скорости электронного потока и квантовому выходу. Для измерения скорости фотосинтетического электронного транспорта (ETR) использовали флуориметр Junior-PAM (Walz, Effeltrich, Germany) (рис.12) и программу WinControl-3 в режимах записи «Световая кривая» и «Индукция».



Рисунок 12. Junior-PAM [26].

Скорость фотосинтетического электронного транспорта рассчитывали по формуле:

$$ETR = I_{PAR} \times (ETR - Factor) \times Y(II),$$

где  $I_{PAR}$  – интенсивность света, ETR-Factor равен 0,84%, отражает эффективность поглощения фотонов пигментами;  $Y(II)$  – эффективность квантового выхода ФСII,  $Y(II) = (F_M - F) / F_M$ . Световую кривую фотосинтеза регистрировали на приборе junior-PAM в диапазоне от 0 – 500 мкмоль фотонов·(м<sup>2</sup>с). Индукционную кривую рассчитывали при 420 мкмоль фотонов·(м<sup>2</sup>с).

Измерения морфологических и биофизических параметров проводили на 21 сутки вегетации растений. Измерение параметров проводили в 5 биологических повторностях.

### 2.2.7 Статистическая обработка результатов

Достоверность различий средних определяли на основе критерия Стьюдента ( $p < 0.05$ ). Количественные данные представлены как  $M \pm m$ . Статистическая обработка данных и построение графиков и диаграмм было произведено при помощи пакета программ Microsoft Excel 2016.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Метаболиты грибов рода *Trichoderma* и модифицированные наноалмазы оказывали положительное влияние на физиологоморфологические параметры растений *Avena sativa L.* на более поздних стадиях развития (21 сутки). Наибольший стимулирующий эффект на все исследуемые показатели, в особенности на развитие корневой системы, оказало комбинированное действие *Trichoderma asperellum* штамм M99-9 и МНА.
2. Под воздействием метаболитов грибов рода *Trichoderma*, модифицированных наноалмазов в листьях растений *Avena sativa L.* увеличивалось накопление сырого и сухого вещества. Наибольший эффект вновь получили при совместном влиянии метаболитов *Trichoderma* и модифицированных наноалмазов на 21-е сутки вегетации.
3. Исследуемые штаммы грибов рода *Trichoderma* и модифицированные наноалмазы способствовали увеличению содержания хлорофиллов *a* и *b* и желтых пигментов, на всех этапах развития, в особенности на содержание хлорофилла *a*. Наибольшее увеличение оказалось комбинированное действие *Trichoderma harzianum* и МНА.
4. Метаболиты грибов рода *Trichoderma* и модифицированные наноалмазы оказывали достоверное положительное влияние на скорость электронного потока и квантовый выход растений. Наиболее эффективным было совместное действие *Trichoderma asperellum* штамм K6-15 и модифицированных наноалмазов.

На основании полученных данных можно предположить, что МНА оказывают существенное влияние на взаимоотношения грибов рода *Trichoderma* и растений, в частности а\на *Avena sativa L.*

Список использованной литературы:

1. Алимова, Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma* // Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина. Казань. – 2006. – С. 209. +4 фотогр.
2. Алимова, Ф.К., *Trichoderma / Hypocreales (Fungi, Ascomycetes, Hypocreales)*: таксономия и распространение // Алимова, Ф.К.. Казань.: УНИПРЕСС ДАС. – 2006.
3. Возняковский, А.П., Шугалей, И.В Поверхностные характеристики частиц детонационных наноалмазов // Экологическая химия. – 2012. – №3. – С. 168-171.
4. Воробьев, А.Е., Воробьев, К.А. Принцип действия и конструктивные особенности биомеханических наноактюаторов // Вестник Атырауского университета нефти и газа им. С.Утебаева. – 2019. – №1(49). – С. 153-160.
5. Гнеушева, И.А., Павловская, Н.Е., Яковлева, И.В. Биологическая активность грибов рода *Trichoderma* и их промышленное применение// Вестник ОрелГАУ. Научное обеспечение развития растениеводства. – 2010. – №3. – С. 36-39.
6. Голованова, Т. И. Взаимоотношения пшеницы с микроскопическими грибами // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. Красноярск. – 2010. – №9.
7. Голованова, Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. Взаимоотношения почвенного гриба *Trichoderma* и яровой пшеницы // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. Красноярск. – 2009. – №7. – С. 102-107.
8. Громовых, Т.И. Фитопатогенные микромицеты сеянцев хвойных в Средней Сибири: видовой состав, экология, биологический контроль // Автореф. диссертации. доктора биологических наук. – Москва. – 2002.
9. Долматов, В.Ю. Детонационные наноалмазы: синтез, строение, свойства и применение // Успехи химии. – 2007. – №4. – С. 375-397.

10. Жарков, А.С., Петров, Е.А., Ананьева, Е.С. Синтез, свойства и перспективы применения детонационных наноалмазов // Фундаментальные проблемы современного материаловедения. – 2013. – №3. – С. 430-436.
11. Жуков, Е.Л., Медведева, Н.Н. Реакция внутренних органов кроликов на внутривенное введение наноалмазов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №6. – С. 235.
12. Каширских, Е.В., Бабич, О.О., Кригер, О.В. Анализ физико-химического и биохимического состава зерен овса посевного *Avena sativa* // Инновации в пищевой биотехнологии. – 2019. – С. 474-476.
13. Коробов, М.В., Батук, М.М., Авраменко, Н.В., Беляева, Л.А. Исследование наноалмазов детонационного синтеза методами дифференциальной сканирующей калориметрии и адсорбции // Кристаллография. Науч. журнал. – 2008. – №1. – С. 61-68.
14. Литовка, Ю.А. Влияние биоконтрольных штаммов *Trichoderma asperellum*, *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas fluorescens* на биологическую активность и структуру микробиоценоза почвы / Ю.А. Литовка, Т.И. Громовых, В.М. Гукасян // Сибирский экологический журнал. – 2002. – №3. – С. 371-376.
15. Лоскутов И. Г. Овес (*Avena L.*). Распространение, систематика, эволюция, селекционная ценность // СПб: ГНЦ РФ ВИР. – 2007. – С. 336.
16. Лоскутов, И.Г., Блинова, Е.В., Гаврилова, О.П., Гагкаева, Т.Ю. Разнообразие культурного овса по хозяйственно ценным признакам и их связь с устойчивостью к фузариозу // Санкт-Петербург, Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – №20. – С. 286-294.
17. Новиков, Н.В., Богатырева, Г.П., Волошин, М.Н. Технология получения и очистки детонационных наноалмазов // Физика твердого тела. – 2004. – №4. – С. 585-590.
18. Пластун, И.Л., Бокарев, А.Н. Возможности терапевтической активности лекарственных препаратов за счет супрамолекулярного взаимодействия с

- модифицированными наноалмазами // Квантово-химические расчеты: структура и реакционная способность органических и неорганических молекул. Науч.конф. – 2018. – С. 170-173.
19. Рей, К.В. Оптические свойства суспензий наноалмазов // Письма в ЖЭТФ. – 2011. – №1-2. – С. 23-37.
20. Рясная, С.И., Плотников, В.А., Макаров, С.В. Модификация поверхности стальных деталей детонационным наноалмазом // Вестник Алтайского государственного университета. Физика. – 2014. – №2. – С. 223-227.
21. Садыкова, В.С., Громовых, Т.И. Лихачев, А.Н. Кураков, А.В., Ушанова, В.М. Биологическая активность сибирских штаммов *Trichoderma* как фактор отбора для создания биопрепаратов защиты растений нового поколения //Биотехнология. Науч.журнал. – 2007. – №6. – С. 12-17.
22. Сенчакова. Т.Ю., Петрищев, В.И. Эффективность использования разных препаративных форм биопрепарата на основе изолята *Trichoderma harzianum* // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. Растениеводство и защита растений. Науч.журнал. – 2013. –№3. – С. 89-90.
23. Смирнова, И.П., Каримова, Е.В., Шнейдер, Ю.А. Некоторые перспективы использования метаболитов рода *Trichoderma* // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: агрономия и животноводство. – 2016. – №3. – С. 22-29.
24. Третьякова, О.М., Третьякова, Е.М., Евтушенков, А.Н. Взаимодействие растений с патогеном // Защита и карантин растений. Науч. журнал. – 2016. – №9. – С. 13-16.
25. Филь, А. А., Шмелькова, В. Ю. Влияние модифицированных наноалмазов на взаимодействие гриба рода *Trichoderma* и растения // МНСК – 2018: Биология. – С. 188-189.
26. Чекалова, К.В., Маркевич, Н.С. Сравнительная оценка биологических препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* // Гавриш. Науч. журнал. – 2005. – №6. – С. 23-25.

27. Шариков, А.М. Изучение антибиотической активности метаболитов гриба рода *Trichoderma* // Вестник Алтайского государственного университета. Экология. – 2011. – №5. – С. 51-53.
28. Шарипова, Д.А., Ветрова, М.А., Масютин, Я.А., Новиков, А.А., Гущин, П.А., Винокуров, В.А. Исследование антагонизма различных штаммов грибов рода *Trichoderma* и грибковых фитопатогенов // Башкирский журнал. – 2013. – №4. – С. 83-85.
29. Шмелькова, В.Ю., Горшков, Е. О. Влияние модифицированных наноалмазов и грибов рода *Trichoderma* на ростовые процессы растений // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий. Материалы XXII Международной научной школы-конференции студентов и молодых ученых. В 2-х томах. // В.В. Аниюшин. – 2018. – С. 172-173.
30. Шугалей, И.В., Судариков, А.М., Возняковский А.П., Целинский, И.В., Гарабаджиу, А.В., Илюшин, М.А. Химия поверхности детонационных наноалмазов как основа создания продукции биомедицинского назначения // Спб.: ЛГУ им. А.С. Пушкина. – 2012.
31. Bae, Soo-Jung. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens / Tapan Kumar Mohanta, Jun Young Chung, Minji Ryu, Gweekyo Park, Sanghee Shim, Seung-Beom Hong, Hyunchang Seo, Dong-Won Bae, Inhwan Bae g, Jong-Joo Kim // Biological Control. – 2016. – №92. – P.128-38.
32. Eastburn, D. M., Butler, E. E. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum* // Mycologia. – 1991. – R. 83. – №. 3. – P. 257-263.
33. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran / A. Prosekov, O. Babich, O. Kriger, S. Ivanova, V. Pavsky, S. Sukhikh, Y. Yang, E. Kashirskih // Food Biosci. – 2018. – V. 24. – P. 46-49.
34. Gupta, R.B., Kompella, U.B. Nanoparticle Technology for Drug Delivery // Drugs and the Pharmaceutical Science Book. – 2009. – №159. – P. 428

35. Howell, C.R. A study of the characteristics of «P» and «Q» strains of *Trichoderma virens* to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases / C.R. Howell , L.S. Puckhaber // Biological Control. – 2005. – Vol. 33. – Issue 2. – P. 217-222
36. Lichtenthaler, H. K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes / H. K. Lichtenthaler // Methods in Enzymology. –1987. – №148. – P.350-382.
37. Moore, L. Protein Delivery by nanodiamonds Promotes bone Formation / L. Moore, M. Gatica, H. Kim, E. Osawa, D. HoMulti // – 2012. –№92(11). – P.976-981.
38. Maag, D. Hanhong Bae Trichoderma atroviride LU132 promotes plant growth but not induced systemic resistance to *Plutella xylostella* in oilseed rape / Daniel Maag, Diwakar R. W. Kandula, Caroline Müller, Artemio 37 Mendoza-Mendoza, Stephen D. Wratten, Alison Stewart, Michael Rosta's // BioControl. – 2014. – №59. –P. 241-252.
39. Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods / Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L. et al. // Food Sci Technol. – 2015. – V.52. – P. 662.
40. Smith, W.H. Forest occurrence of *Trichoderma* species – emphasis on potential organochlorine (xenobiotic) degradation// Ecotoxicol. Environ. Safety. – 1995. – Vol. 32. – № 2. – P. 179-183.
41. Sakovich, G.V. Synthesis, properties, application and production of nanoscale synthetic diamonds. Part 2. Application and production / G.V. Sakovich, V.F. Komarov, E.A. Petrov // Superhard material. – 2002. – №. 4. – P. 8-23.
42. Samuels, G.J. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus* / G.J. Samuels, S.L. Dodd, W. Gams, L.A. Castlēbury, O. Petrini // Mycologia. – 2002. – №1. – P. 156-170.
43. Vinale F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L., Lorito, M. *Trichoderma* – plant – pathogen interactions // Soil Biol. Biochem. – 2008. – P. 1-10

44. ГОСТ 1238-84 семена сельскохозяйственных культур методы определения всхожести – Введ. 1986-07-01 – Москва Стандартинформ, 2011 – 64 с.
45. Патент РФ №2171580, опубл. 10.08.2001. Штамм для защиты хвойных растений от корневых гнилей / Садыкова В.С. и др.
46. [Электронный источник]: <http://www.labinstruments.ru/photosynthesis/pam-fluorometers/>
47. [Электронный источник]:<https://universityagro.ru/растениеводство/овес/>

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий  
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

Гладышев М. И.  
подпись, фамилия, инициалы  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_ 2021 г.

### Выпускная квалификационная работа

06.03.01 БИОЛОГИЯ

Код и наименование специальности

Эффект комбинированного воздействия наноалмазов и метаболитов  
грибов рода Trichoderma на ростовые процессы  
растений Avena sativa L.

Тема работы

Научный руководитель Голованова Т.И.  
Подпись, дата

профессор, д.б.н.  
Должность, ученая степень

Голованова Т.И.  
Фамилия, инициалы

Студент Шмелькова В.Ю.  
Подпись, дата

ББ17-33Б  
Номер группы

Шмелькова В.Ю.  
Фамилия, инициалы

Красноярск, 2021